



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria  
y Zootecnia

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD ENZIMATICA Y EN LOS  
NIVELES DE BILIRRUBINA SERICA EN CABRAS CON  
DAÑO HEPATICO, INDUCIDO CON TETRACLORURO  
DE CARBONO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
BIBLIOTECA - UNAM

T E S I S

Que para obtener el Título de  
Médico Veterinario Zootecnista

P r e s e n t a

Miguel Angel González Díaz



Asesores: MVZ. Hedberto Ruiz Skewes  
MVZ. Ricardo Navarro Fierro  
MVZ. Emilio Suberbie Aguirre  
QFB. Rosalva Salcedo Elisea

México, D. F.

Julio de 1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y EN  
LOS NIVELES DE BILIRRUBINA SÉRICA EN CA-  
BRAS CON DAÑO HEPÁTICO, INDUCIDO CON TE-  
TRACLORURO DE CARBONO.

Tesis presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista  
por  
Miguel Angel González Díaz.  
1985

## R E S U M E N

GONZALEZ DÍAZ MIGUEL ANGEL. Cambios en la actividad enzimática y en los niveles de bilirrubina sérica en cabras con daño hepático, inducido con tetracloruro de carbono (bajo la dirección de: Hedberto Ruíz Skewes, Ricardo Navarro Fierro, Emilio Suberbie Aguirre y Rosalva Salcedo Elisea).

La finalidad del presente trabajo fué determinar los cambios en los niveles de las enzimas: deshidrogenasa del sorbitol, deshidrogenasa del glutamato, aspartato amino-transferasa y arginasa. También se evaluaron los cambios séricos de bilirrubina total y conjugada. Se utilizaron 5 cabras -- mestizas de aproximadamente 2 años de edad y 25 Kg de peso corporal. Se les sangró diariamente 2 días antes y 6 después de administrar tetracloruro de carbono por vía oral. A esta se le dejó coagular y se le extrajo el suero, en el cual se determinaron los niveles enzimáticos propuestos. Se encontró que los niveles enzimáticos y de bilirrubina empezaron a aumentar a las 12 hs., alcanzando sus máximos niveles al segundo día de la intoxicación y disminuyendo, sin llegar a sus niveles basales a los 6 días. La determinación de las enzimas hepatoespecíficas y bilirrubinas permiten detectar tempranamente la necrosis hepática producida por el tóxico. Esto nos permite poder detener el daño, actuando sobre las causas y poder administrar un tratamiento efectivo lo más rápido posible.

Con gran amor y respeto  
a mis padres

Miguel González Ollivier

y

M<sup>a</sup> teresa Díaz de González.

A mis hermanos

M<sup>a</sup> teresa

Alejandro

Luis Antonio

Mario

y

Enrique

A mis amigos y compañeros  
de siempre.

## A G R A D E C I M I E N T O S

Por su amistad y gran  
ayuda a mis asesores:

M.V.Z. M.sc. Hedberto Rufz Skewes.  
E.V.Z. Ricardo Navarro Fierro.  
M.V.Z. Emilio Suberbie Aguirre.  
Q.F.B. Rosalva Sálcedo Elisea.

Por su apoyo y gran amistad a:

M.V.Z. Miguel Angel Blanco Ochoa.

Por sus consejos  
a mis sinodales:

M.V.Z. Benjamin Lucio M.  
M.V.Z. Teresa Casaubon H.  
M.V.Z. José Torres M.  
M.V.Z. Manuel Rengel Q.  
M.V.Z. P. José Ayala B.

A quien de una forma u otra intervi-  
no en mi formación profesional.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODOS.....	3
RESULTADOS.....	5
DISCUSION.....	7
CONCLUSIONES.....	8
CUADROS.....	9
FIGURAS.....	12
BIBLIOGRAFIA.....	18

## INTRODUCCION

El daño celular hepático, causado por agentes tóxicos, produce una lesión, que ha sido detectada en humanos ( 10 , 11 ) y en los animales domésticos ( 2, 3 ) por la medición de la actividad, en suero, de las enzimas hepatoespecíficas. Los niveles de éstas se elevan después del daño hepático, debido al incremento en la permeabilidad de la membrana o necrosis de las células hepáticas. La deshidrogenasa del sorbitol y deshidrogenasa del glutamato, han sido recomendadas como enzimas sensitivas y específicas del hígado, y junto con su actividad para detectar daño hepático en ovejas, después de intoxicación hepática con varios agentes, incluyendo el tetracloruro de carbono ( 4, 5, 6, 9 ). La aspartato amino-transferasa ha mostrado una elevación significativa de la actividad, mientras que la transaminasa glutámico-pirúvica, no es muy común para el diagnóstico de trastornos hepáticos propuestos para ovejas y ganado, por su bajo nivel de actividad enzimática en el suero ( 2, 4, 9 ).

No se encontraron datos, en la literatura revisada, relacionados con el patrón enzimático y de bilirrubinas séricas en cabras con lesión hepática necróticas naturales o experimentales.

La finalidad del presente trabajo, fué la de evaluar los cambios en la concentración de algunas enzimas como son: deshidrogenasa del sorbitol ( DHS ), deshidrogenasa del glu

tanato ( DHG ), aspartato amino-trasferasa ( AST ), arginasa y de las bilirrubinas total y conjugada ( BT y BC ) en suero de cabras con necrosis hepática, inducida con tetracloruro de carbono (  $CCl_4$  ).

## MATERIAL Y METODOS.

El trabajo se realizó con 5 cabras mestizas hembras, - con una edad promedio de 2 años y un peso de 25 Kg aproximadamente. Los animales recibieron una alimentación a base de avena, tres veces al día, y agua a libre acceso. El manejo fué similar para cada una de ellas, durante el periodo del experimento.

Se recolectaron 10 ml de sangre de la vena yugular de cada una de las 5 cabras, usando equipo vacutainer "R", entre las 8:00 y 8:30 A.M. dos días antes, y diariamente, durante seis días, iniciando a las 12 horas, después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml de  $\text{CCl}_4$  en 1 ml de aceite de maíz por kilogramo de peso corporal, en una toma ) con una sonda esofágica.

A la sangre recolectada se le permitió coagular espontáneamente durante 15 minutos a temperatura ambiente (  $25 \pm 5$  °C ) y posteriormente se centrifugó a 3,000 rpm. ( 2,600 x G ) por 10 minutos, terminado esto, se recolecto el suero y se congeló a -20 °C hasta el momento de la determinación ( antes de 5 horas posrecolección ) de las enzimas séricas y las bilirrubinas, usando, para determinarlas, las siguientes técnicas: para DNS y DHG ( 7 ), para arginasa ( 3 ) y para AST y bilirrubinas ( # ).

"R" Becton y Dickinson de México, S.A.

( # ) Técnicas y reactivos de Merck de México S.A.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza, usando los métodos descritos por Gill ( 7 ), con el modelo que se indica a continuación:

$$Y_{ijk} = M + T_i + D_{j(i)} + C_k + E_{jik}$$

$Y_{ijk}$  : Observación en la variable de respuesta de la i, j, k, ésima muestra.

M : Media general.

$T_i$  : Efecto del tratamiento ( antes y después ).

$D_{j(i)}$  : Efecto de la j-ésima muestra, quedando dentro del "i." tratamiento.

$E_{ijk}$  : Error aleatorio de  $Y_{ijk}$ .

## RESULTADOS

Se encontró que en el grupo de cabras estudiado, y posterior a la aplicación de la dosis de tetracloruro de carbono (  $CCL_4$  ) los niveles séricos de DHS, DHG, AST, arginasa y los valores de bilirrubina total y conjugada en el suero, aumentaron ( Cuadro No 1, figuras de la 1 a la 6 ). El inicio de la actividad enzimática, se notó a las 12 horas y alcanzando sus máximas niveles al segundo día después de la administración del  $CCL_4$  para todas las enzimas y bilirrubinas.

Se encontró que la DHS llegó a alcanzar niveles hasta de 4,527.97 mU/ml al segundo día, 85 veces el valor basal -- en su pico, bajando hasta 198.03 mU/ml al sexto día después de la intoxicación, quedando por arriba de los valores basales (  $55.15 \pm 2.19$  mU/ml ) ( Fig No 1 ).

La DHG, también alcanzó su máximo de actividad al segundo día, con valores hasta de 151 veces más que el basal (  $6.5 \pm 2.5$  mU/ml ), con rangos de 1,365.88 mU/ml en su pico y disminuyendo, sin llegar al valor basal, al sexto día, -- quedando con 33.19 mU/ml ( Fig No 2 ).

El comportamiento de la AST fué similar al de las deshidrogenasas, alcanzando su máxima actividad ( 666 mU/ml ) -- al segundo día de la intoxicación y bajando al sexto día -- a valores de 286 mU/ml, siendo superior éste a los valores basales (  $131 \pm 3$  mU/ml ) ( Fig No 3 ).

La arginasa, llegó a valores de 3,245.25 UI/ml al segundo día de administrar el tóxico, bajando a 60 UI/ml al sexto día, quedando por arriba de los valores basales ( $37.64 \pm 15.54$  UI/ml) (Fig No 4).

Las bilirrubinas, al igual que las demás pruebas, alcanzaron sus niveles más altos de actividad al segundo día después de la intoxicación, con la diferencia de que la bilirrubina conjugada alcanzó los valores basales al tercer día, siendo su pico de 0.75 mg/dl y llegando al sexto día a niveles más bajos que los basales. La bilirrubina total alcanzó niveles hasta de 1.05 mg/dl al segundo día, y al quinto día llegó a tener valores de 0.06 mg/dl, siendo menores que los basales ( $0.28 \pm 0.23$ ) ( Fig No 3 y 4 ).

Al correlacionar los resultados obtenidos entre las diferentes pruebas, se encontró una correlación positiva entre todas las variables, siendo la correlación entre la DHS con las demás variables la de mayor relevancia, y la correlación de AST y arginasa, con respecto a las demás variables, las de menor relevancia ( Cuadro No 2 ).

En el análisis de varianza, tomando en cuenta las variables día, cabra, enzimas y bilirrubinas, no se encontraron variaciones significativas entre cabra y cabra. Lo más importante fueron las variaciones entre día y día junto con las enzimas u bilirrubinas, donde se encontró un efecto altamente significativo ( Cuadro No 3 ).

## DISCUSION

La administración del  $CCL_4$  a cabras, causó una elevación de las enzimas séricas hepatoespecíficas (DHS, DHG, y arginasa) a partir de las 12 horas de la intoxicación, alcanzando su máximo nivel al segundo día, y disminuyendo después, hasta llegar al sexto día sin alcanzar sus niveles basales. Esto es similar a lo comunicado por Ford y Harvey -- (5, 9) en ovinos intoxicados con la misma dosis de  $CCL_4$ . Sin embargo Alemu et al (1) encontraron que los niveles máximos de las enzimas séricas, después de la intoxicación con  $CCL_4$  se alcanzaron a los cuatro días. No se encontró una explicación a estas diferencias.

La elevación temprana (12 horas posadministración de  $CCL_4$ ) de la actividad enzimática, encontrada en este estudio es muy importante, ya que permitió detectar daño hepático temprano.

Los niveles de AST, se elevaron en forma similar a los de las enzimas DHS, DHG y arginasa. Sin embargo, esta enzima no es hepatoespecífica y solo permitiría detectar una lesión tisular y la desaparición de ésta; para detectar lesión hepática tendría que determinarse junto con enzimas hepatoespecíficas.

Las bilirrubinas total y conjugada siguieron un comportamiento similar al de las enzimas y la elevación de éstas posiblemente fué causada por una colestasis intrahepática; estos cambios han sido descritos por Alemu et al (1) en bovinos intoxicados con tetracloruro de carbono.

## CONCLUSIONES

Los niveles de las enzimas DHS, DHG, AST y arginasa y de bilirrubinas total y conjugada aumentaron, después de la administración, a cabras de  $\text{CCL}_4$  ( 0.5 ml/kg de peso corporal ), a partir de las 12 horas. Alcanzaron sus máximos niveles al segundo día y disminuyeron paulatinamente sin llegar a sus valores basales al sexto día posadministración del tóxico. Esta elevación y disminución de los valores enzimáticos y bilirrubinas, fué causado por el daño hepático inducido por el  $\text{CCL}_4$ .

Los resultados obtenidos en este estudio, en cabras, - son similares a los encontrados por otros investigadores en borregos intoxicados con tetracloruro de carbono.

Cuadro NO 1.- Niveles promedio de enzimas y bilirrubinas séricos en cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono (0.5 ml por kilogramo de peso corporal).

PRUEBA DIA.	D H S. mU/ml	D H G. mU/ml	A S T. mU/ml	ARGINASA. mU/ml	B T. mg/dl	B C. mg/dl
- 2	52.96	4.01	128	22.30	0.05	0.50
- 1	57.35	9.01	134	53.38	0.52	0.56
1	1150	136.64	260	1968.58	0.79	0.55
2	4527.97	1365.88	616	3245.28	1.05	0.75
3	1819.94	759.84	422	696.10	0.86	0.58
4	1030.33	246.41	484	86.40	0.74	0.55
5	722.38	55.84	392	106.40	0.06	0.03
6	190.03	33.19	286	60	0.06	0.04

**Cuadro Nº 2.- Correlación entre los niveles de enzimas y bilirrubinas sericas, en cabras intoxicadas con CCL<sub>4</sub> (0.5 ml por Kg de peso corporal)**

	B C.	B T .	ARGINASA.	A S T .	D H G .
D H S. mU/ml	60.2% (38)	73.6% (38)	75.4% (33)	77.4% (40)	91.3% (40)
D H G. mU/ml	62.0% (38)	73.3% (38)	73.1% (33)	71.3% (40)	
A S T. mU/ml	31.6% (38)	48.5% (38)	43.7% (33)		
ARGINASA. mU/ml	48.8% (33)	49.8% (33)			
B T. mg/dl	86.0% (38)				

Cuadro NO 3.- Resultados del análisis de varianza en cada una de las enzimas y bilirrubinas sericas de cabras intoxicadas con CCL<sub>4</sub> (0.5 ml por Kg de peso corporal).

D H S.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	39603 378.82	5657 625.55	** 11.3
CABRA BLOQUE	4	2054 504.62	513 626.15	-
ERROR	21	10519 116.92	500 910.33	-
TOTAL	32	51235 478.91	-	-

D H B.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	5560 247.90	808 606.84	** 14.3
CABRA BLOQUE	4	468 521.75	117 130.44	-
ERROR	21	1210 668.37	57 650.88	-
TOTAL	32	6978 034.23	-	-

A S T.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	657 033.59	93 861.94	** 9.74
CABRA BLOQUE	4	300 470.25	75 117.56	-
ERROR	21	202 286.42	9 632.69	-
TOTAL	32	1083 896.97	-	-

ARGINASA.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	41544 918.77	5934 988.40	** 13.8
CABRA BLOQUE	4	2358 725.00	589 681.25	-
ERROR	21	9026 997.90	429 857.04	-
TOTAL	32	52380 285.44	-	-

B T.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	5.22	0.75	** 45.04
CABRA BLOQUE	4	0.58	0.14	-
ERROR	24	0.40	0.02	-
TOTAL	35	6.24	-	-

B C.

	GL.	S.C.	C.M.	F.
DIA.	7	2.33	0.33	** 20.71
CABRA BLOQUE	4	0.22	0.06	-
ERROR	21	0.34	0.02	-
TOTAL	32	2.80	-	-

\*\* Efecto altamente significativo (P 0.01)

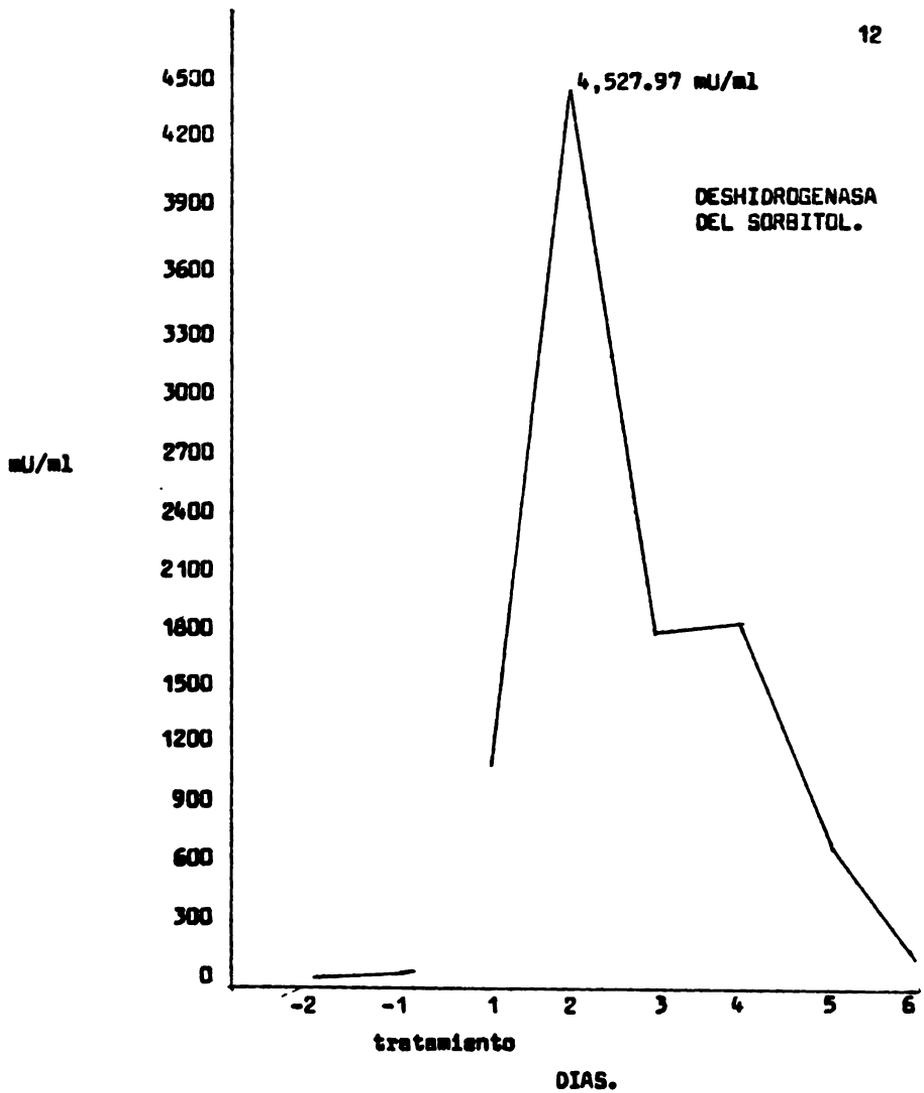


Fig No 1.- Actividad de la enzima deshidrogenasa del sorbitol en suero de cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml por Kg de peso corporal ).

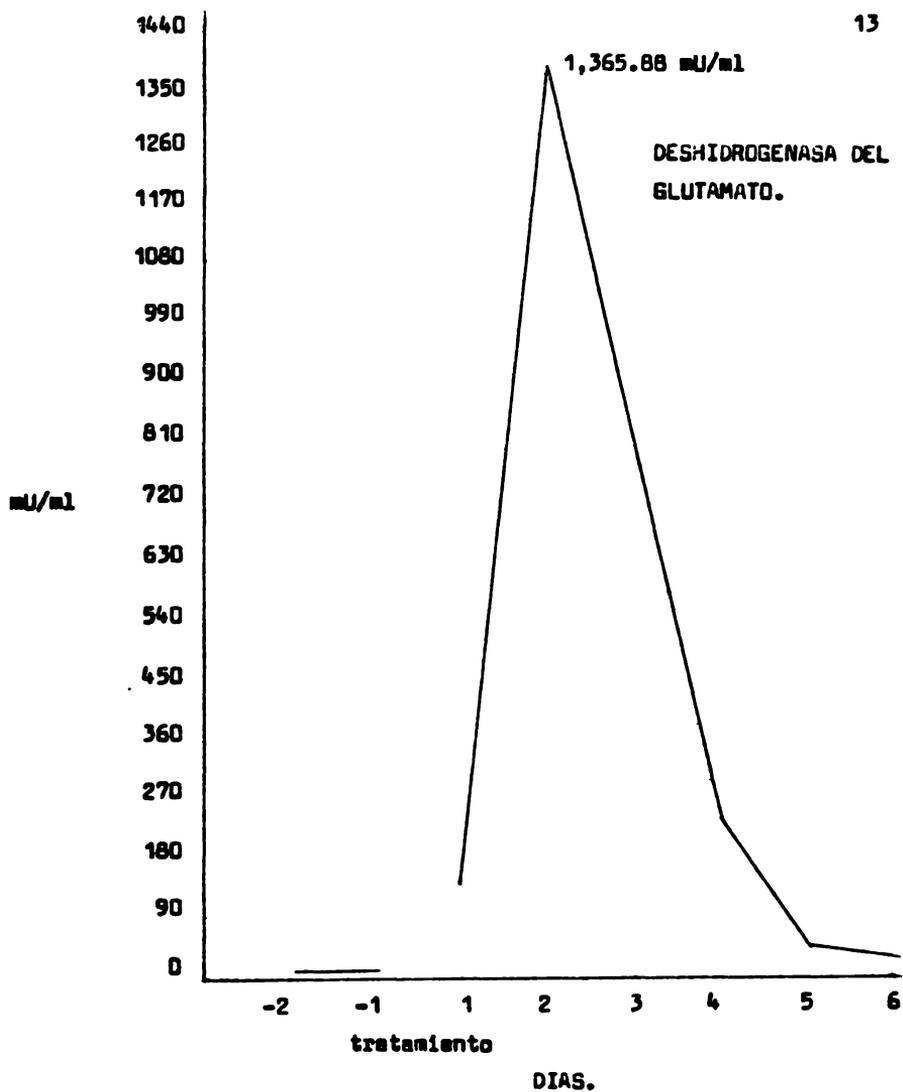


Fig No 2.- Actividad de la enzima deshidrogenasa del glutamato en suero de cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml por Kg de peso corporal ).

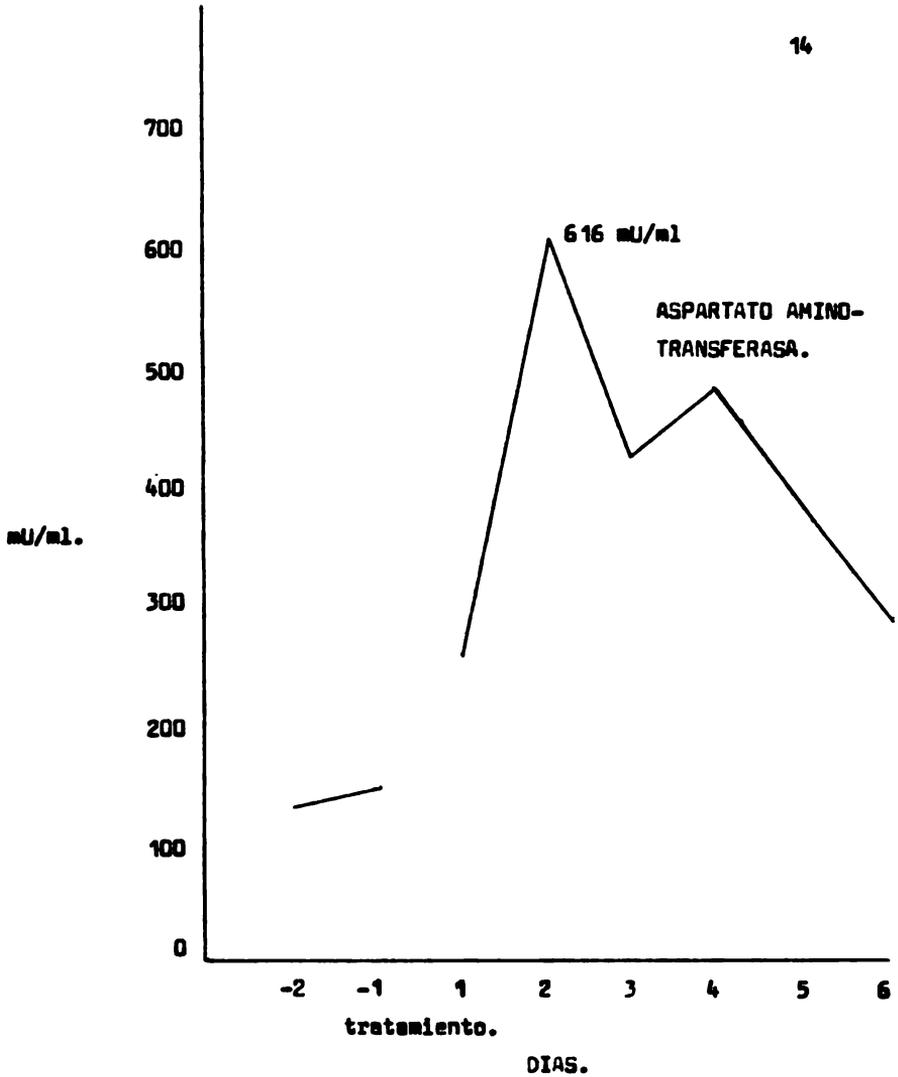


Fig No 3.- Actividad de la enzima aspartato amino-transferasa en suero de cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml por Kg de peso corporal ).

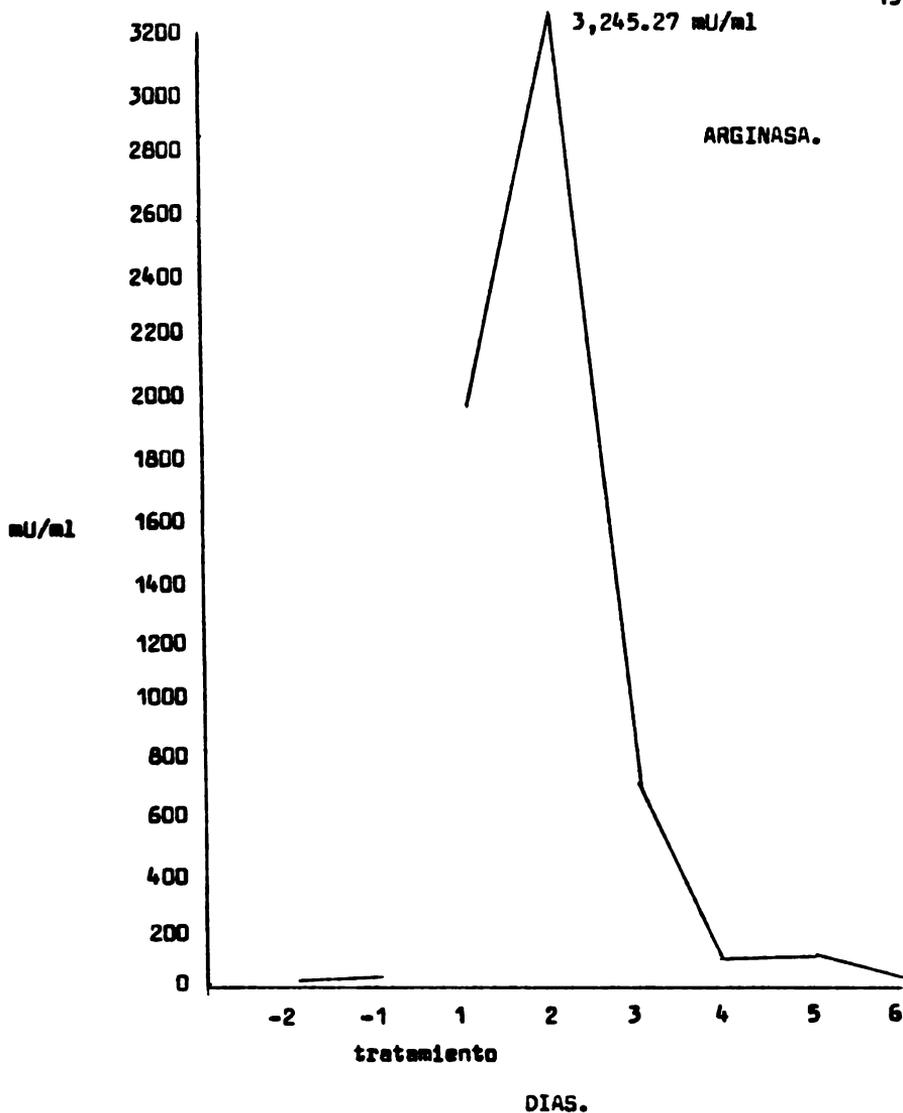


Fig No 4.- Actividad de la enzima arginasa en suero de cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml - por Kg de peso corporal.

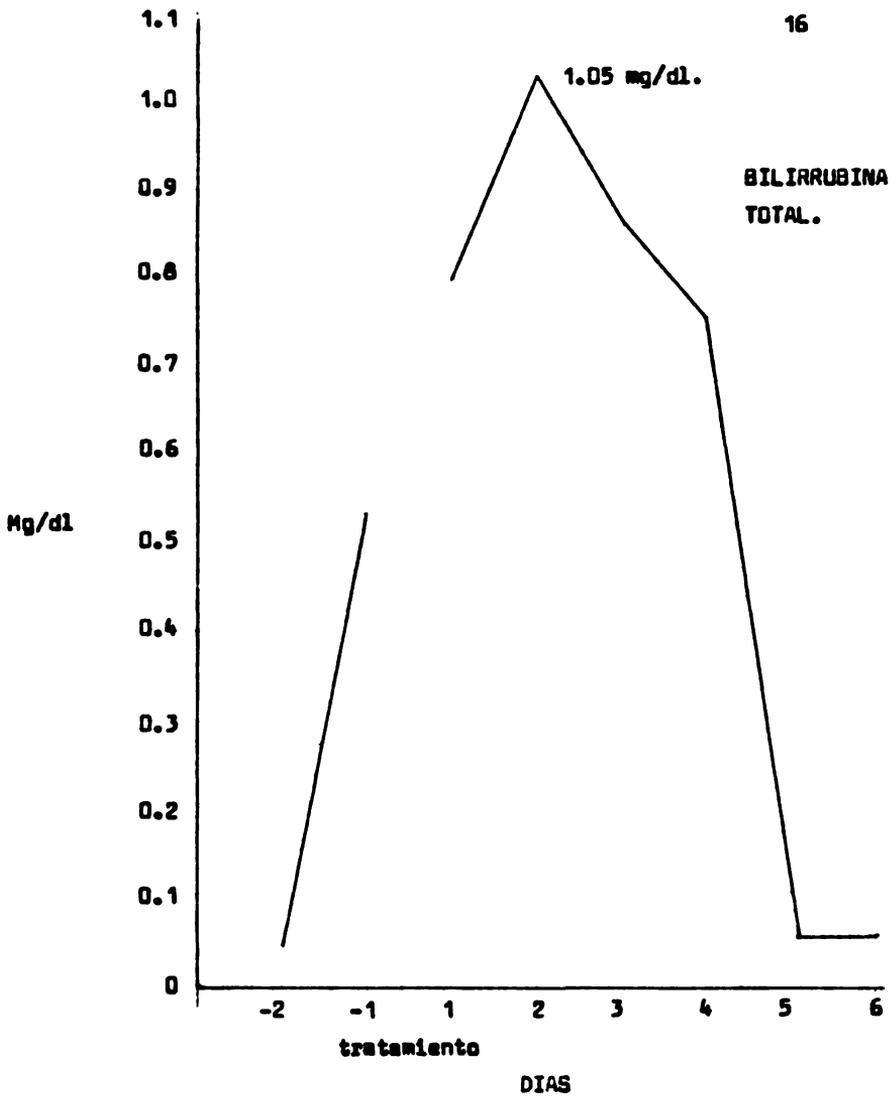


Fig No 5.- Valores de la bilirrubina total en suero de cabras, antes - y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml por Kg de peso corporal ).

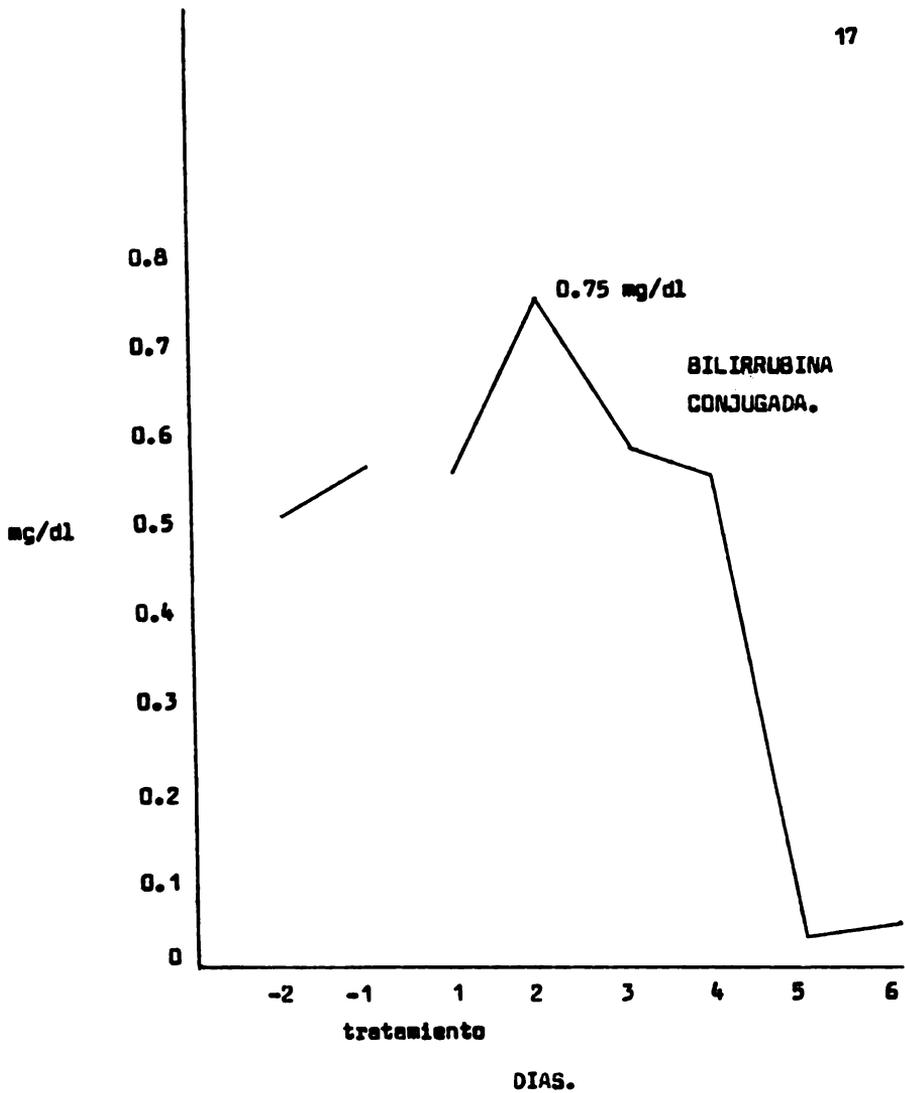


Fig No 6.- Valores de la bilirrubina conjugada en suero de cabras, antes y después de la administración de tetracloruro de carbono ( 0.5 ml por - kg de peso corporal ).

## DIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alemu, P.; Forsyth, G. J. and Searcy, G. P.: A comparison of parameters used to assess liver damage in sheep treated with carbon tetrachloride. Can. J. Comp. Med., 41: 420-427 (1977).
- 2.- Cornelius, C. E.; Bishop, J.; Switzer, J. and Rhode, W. A.: Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornell Vet., 49: 116-126. (1959).
- 3.- Cornelius, C. E.; Douglas, G. H.; Gronwall, R. R. and Freedland, R. A.: Comparative studies on plasma arginase and transaminase in hepatic necrosis. Cornell Vet., 53: 181-191. (1963).
- 4.- Ford, E. J. H.: The ruminant liver. Vet. Rec., 77: 1507-1516 (1965).
- 5.- Ford, E. J. H.: Activity of sorbitol dehydrogenase in the serum of sheep and cattle with liver damage. J. Comp. Path. 77: 405-411 (1967).
- 6.- Ford, E. J. H.: Activity of gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. J. Comp. Path. 84: 231-243 (1974).
- 7.- Freedland, R. A.; Hjerpe, C. A. and Cornelius, C. E.: Comparative studies on plasma enzyme activities in experimental hepatic necrosis in the horse. Res. Vet. Sci., 6: 18-23 (1965).
- 8.- Gill, J. L.: Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1978.

- 9.- Harvey, D. G. and Hoe, C. H. : The application of some - liver function tests to sheep dosed with carbon tetrachloride and hexachlorophene. Vet. Rec., 88: 562-569 (1971).
- 10.- Wroblewski, F. and Ladue, J. S.: Serum glutamic pyruvic -- transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc.- Exp. Biol. Med. 91: 569-571 (1956).
- 11.- Wroblewski, F.; Jarvis, G. and Ladue, J. S.: The diagnostic, prognostic and epidemiological significance of serum glutamic oxaloacetic transaminase alterations in acute - hepatitis. Annals Internal. Med. 45: 782-800 (1956).